

Japanese Patent Office		
Classification: 36(2)D 531.42		Publication No.: 44-20390
	Publication	Publication date: September 2, 1969
(Total pages 3)		

Title: Process for producing 5'-xanthyllic acid, xanthosine or xanthine

Application No.: 40-6594

Application date: February 8, 1965

Applicant: KYOWA HAKKO KOGYO KK

Abstract:

5'-xanthyllic acid, xanthosine or xanthine is prepared by culturing a micro-organism capable of producing these compounds in an aqueous nutrient medium containing a source of carbon and nitrogen under aerobic conditions in the presence of decoyinine. The decoyinine is preferably employed in amounts of 30mg to 2mg per liter of fermentation medium. Preferred conditions are a temperature of 20 DEG to 40 DEG C. and a pH of 5.5 to 9.0. Suitable carbon sources are carbohydrates and acids. Suitable nitrogen sources are ammonia, ammonium salts, nitrates, urea and other compounds. Inorganic compounds such as metal salts may be added. Amino acids and vitamins may be added in the case of micro-organisms having certain growth requirements for certain substances.

特許公報

公告 昭和44年(1969)9月2日

発明の数 1

(全3頁)

1

2

④発酵法によるダーキサンチル酸、キサントシン
およびキサンチンの製造法

④特願 昭40-6394

④出願 昭40(1965)2月8日

④発明者 中山清

相模原市上鶴間4900

同 萩野治志

八王子市本町83

④出願人 協和醸酵工業株式会社

東京都千代田区大手町1の4

代表者 加藤弁三郎

代理人 弁理士 近藤一緒

発明の詳細な説明

本発明はキサンチン系化合物即ち、5'-キサンチル酸、キサントシンおよびキサンチンを微生物を用いて製造する方法に関するものである。特に本発明は微生物を培地に培養するにあたり、抗生物質、デコイイニン(*decoyinine*)即ち9-β-D-*(5',6'-Psicofuranoseenyl)-6-aminoguanine*を培地に添加して、培養することにより、培地中および菌体中に5'-キサンチル酸、キサントシンおよびキサンチンを蓄積せしめこれを採取する方法に係り、その目的とするところは、安価な原料から微生物により上記キサンチン系化合物を合成せしめ、これらの化合物を経済的且高収量に得るにある。

キサンチン系化合物のうち、5'-キサンチル酸は重要な呈味性物質である。又同時にえられるキサントシンおよびキサンチンは2次的に5'-キサンチル酸に誘導せしめることができる。

本発明者らは微生物を利用するスクレオチドの製造法につき種々研究の結果、抗生物質、デコイイニンを培養のいずれかの時期に培地中に存在せしめて、細菌を培養すると、5'-キサンチル酸、キサントシンおよびキサンチンが増量培地中および菌体中に生成蓄積されることを発見した。この

事実は従来全く未知の現象で、本発明はこの事実に基づいて完成されたものである。

本発明の最も特色とするところは、培地中に抗生物質、デコイイニンを添加することにある。

5 本発明において使用する微生物は細菌であれば一般に用いることができ、その分類的位置とキサンチン系化合物生成蓄積能との間には特に深い関係は認め得なかつた。

本発明に使用する培地組成としては、使用微生物の生育を充分に支持するものであれば、一般的に使用可能である。即ち、炭水化物、有機酸その他の炭素源(グルコース、澱粉加水分解、糖蜜、酢酸、乳酸、グルタミン酸など)、窒素源(尿素、塩化アスモニウム、硝酸アンモニウムなど)、無機物(磷酸カリ、硫酸マグネシウム、塩化カルシウムなど)、含窒素天然物(コーンステーブリカーチ、酵母エキス、肉エキス、ワインシユミールなど)を程よく含有する培地ならば使用可能である。栄養要求を示す菌株を用いる場合は当然その要求15を満足させる物質を培地に存在させなければならない。

上記の培地中抗生物質、デコイイニンを発酵経過の初期即ち、植菌前又は菌の生育が最大に達しない前、(通常、植菌後6~48時間の間)に加える。デコイイニンの添加量は、菌の生育を抑制するに足る量であればよく、使用微生物の種類、添加の時期によつても異なるが、通常3.0~2.0mg/mlの使用が好適である。

発酵は振盪培養または通気攪拌深部培養などの好気的条件下で、培養温度20~40℃で、pH 5.5~9.0で行う。培養時間は通常2~8日で、培地中および菌体中に著量のキサンチン系化合物即ち、5'-キサンチル酸、キサントシンおよびキサンチンが蓄積する。

35 培養終了後、既知のイオン交換樹脂処理法や、吸着法、沈殿法、抽出法などによつて、これらの物質を回収することができる。

以下、本発明の実施例を示す。これは単なる一

例示であつて、本発明を限定するものではない。
実施例 1

種菌としては、ブレビバクテリウム・アンモニアゲネス ATCC6872 を用い、グルコース 2%、 K_2HPO_4 0.1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.03%、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01%、 $NaCl$ 0.25%、カゼミノ酸(ビタミンを含まず) 1%、ビオチン 3.0 $\mu g/l$ の組成の培地(pH 7.2) で 30℃ で 24 時間培養したものを発酵培地に対して 10% (容量) の割合で拡張する。種培地、発酵培地とも 250 ml 容量の三角フラスコに 20 ml ずつ分注し、殺菌後使用する。発酵培地は下記の組成のものを用い 30℃ で振盪培養する。

発酵培地組成: グルコース 1.0%、尿素 0.6%、 KH_2PO_4 1%、 K_2HPO_4 1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1%、 $CaCO_3 \cdot 2H_2O$ 0.01%、ビオチン 3.0 $\mu g/l$ 、バントテン酸カルシウム 5 $\mu g/l$ 、チアミン 2 $\mu g/l$ 。

発酵培地の pH は 8.0 に希硫酸ソーダを用いて調整し、殺菌は加压殺菌法で、1 kg/cm²、10 分の条件で行う。発酵培地に種培養を拡張する前にデコイイニンを発酵培地に最終 6.25 $\mu g/ml$ の濃度となるよう添加する。

かくして 120 時間培養した場合、発酵液中には、5'-キサンチル酸 2.94 $\mu g/ml$ 、微量のキサントシンおよびキサンテンが生成蓄積した。菌体中にこれら化合物の蓄積が認められた。

菌体を除去し、発酵液を常法により処理して、*

* 5'-キサンチル酸をえた。菌体は 0.5 N 塩酸で抽出し、抽出液を苛性カリで中和して、生じた塩素酸カリの沈殿を除き、上澄を酸酵液と合わせ、これを常法により処理して、5'-キサンチル酸をえた。

実施例 2

デコイイニンの濃度を培養開始後 24 時間に 1 $\mu g/ml$ の濃度に酸酵液に加えるよう改変した他の実施例 1 と全く同様に培養した場合、120 時間の培養で、発酵液中にデキサンチル酸 0.87 $\mu g/ml$ が生成蓄積した。

実施例 3

種菌としては、バチルス・ズブチリス ATCC15244 を用いる。酸酵培地としては、グルコース 1.0%、 KH_2PO_4 0.1%、 K_2HPO_4 0.2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%、 NH_4Cl 1.5%、酵母エキス 0.5%、 $CaCO_3$ 3% の組成のものを用いて、培養前にデコイイニンを 1 $\mu g/ml$ の濃度で加える。その他の条件は、実施例 1 と同様にして、120 時間培養した場合、培地中にキサントシン 0.75 $\mu g/ml$ が生成蓄積した。

実施例 4

第 1 表に示した諸種の細菌菌株を用い、培養前に、表示した濃度にデコイイニンを発酵培地に加える。その他の条件は実施例 1 に示したと同じ条件で 120 時間培養した場合、培養中のキサンチル系化合物の蓄積量は表示の如くであつた。

第 1 表

菌 株	デコイ ニン添加 量 $\mu g/ml$	生成物 ($\mu g/ml$)			
		5'-キ サンチ ル酸	キサン トシン	キサン テン	
アースロバクター・ウレアフアシエンス (KY 3152)	5.00	0.84	0.86	0.53	
アースロバクター・シンブレクス (KY 3151)	10.00	痕跡	痕跡	0.29	
フラボバクテリウム・アルボレクセンス (ATCC4338)	1.25	痕跡	痕跡	0.36	
ブレビバクテリウム・リネンス (ATCC9176)	3.2	痕跡	0.38	痕跡	
ブレビバクテリウム・ビタルウメン (ATCC10231)	2.50	痕跡	0.48	0.37	
ブレビバクテリウム・ヘルボルム (ATCC11822)	5.00	0.34	0.82	痕跡	
アルカリゲネス・ファエカリス (OUT 8028)	10.00	痕跡	痕跡	0.19	
セラチア・マルセツセンス (KY 4101)	2.50	痕跡	痕跡	0.21	
プロテウス・ブルガリス (KY 4051)	2.50	0.27	痕跡	痕跡	
エロバクター・エロゲネス (ATCC8308)	10.00	痕跡	0.28	0.35	

バチラス・メガテリウム(ATCC15177)

バチラス・セレウス(ATCC7004)

バチラス・ブミルス(KY 3353)

サルテナ・ルテア(ATCC15176)

ミクロコッカス・ソドネンシス(KY 3765)

ミクロコッカス・シトレウス(ATCC4012)

ミクロコッカス・バリニアス(ATCC399)

エシエリキア・コリ(K12)

バチラス・ズブチリス(ATCC15244)

ミクロコッカス・グルタミクス(ATCC13032)

ブレビバクテリウム・アンモニアゲネス(ATCC6872)

ブソイドモナス・フルオレッセンス(NRRL-B-6)

500 痕跡 0.23 0.52

250 0.32 痕跡 痕跡

250 0.14 痕跡 痕跡

32 0.68 痕跡 痕跡

1000 痕跡 0.76 痕跡

125 0.07 痕跡 痕跡

32 0.21 痕跡 痕跡

2000 痕跡 0.91 痕跡

500 0.09 痕跡 痕跡

250 0.68 痕跡 痕跡

32 2.16 痕跡 痕跡

500 0.49 0.48 0.31

特許請求の範囲

1 抗生物質デコイイニンを培養のいずれかの時期に存在せしめた培地に細菌を培養することにより、培地中および菌体内に5'-キサンチル酸、キ

サントシンおよびキサンチンを生成蓄積せしめこれを採取することを特徴とする5'-キサンチル酸、キサントシンおよびキサンチンの製造法。